

Rec'd PCT/PTA 04 OCT 2004

510,116  
10/510116

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
16 octobre 2003 (16.10.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 03/084979 A2

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : C07K

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR03/01120

(22) Date de dépôt international : 9 avril 2003 (09.04.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
02/04464 10 avril 2002 (10.04.2002) FR

(71) Déposant et

(72) Inventeur : ZAGURY, Jean-François [FR/FR]; 117, rue  
Vieille du Temple, F-75003 Paris (FR).

(74) Mandataire : SANTARELLI; 14, avenue de la Grande-  
Armée, B.P. 237, F-75822 Paris Cedex 17 (FR).

(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,

DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,  
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,  
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,  
LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet  
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,  
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée  
dès réception de ce rapport

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.

(54) Title: NOVEL PEPTIDES AND THE APPLICATION THEREOF IN THERAPY

(54) Titre : NOUVEAUX PEPTIDES ET LEUR APPLICATION EN THERAPEUTIQUE

(57) Abstract: The invention relates to a peptide which comprises between 5 and 40 amino acids, is obtained from a cytokine, and in which at least one of the amino acids contains at least one atom that is spaced (d) less than 5 angstroms from an atom of the receptor corresponding to said cytokine, the spacing (d) being evaluated on structural data, derivatives thereof, and an immunogenic compound comprising said peptide or peptide derivatives, the use of a peptide or peptide derivative or immunogenic compound for preparing a therapeutic or prophylactic medicament used for treating or preventing diseases that are associated with an excess or the presence of cytokines or for treating an autoimmune disease, and pharmaceutical compositions containing at least one inventive peptide or peptide derivative or immunogenic compound as an active principle.

(57) Abrégé : Peptide de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés, provenant d'une cytokine, dans lequel au moins un de ses acides aminés comporte au moins un de ses atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, l'espacement d étant évalué sur des données structurales, dérivés, composé immunogène les comprenant, utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement ou à la prévention des affections liées à un excès ou à la présence de cytokines ou au traitement d'une maladie auto-immune et compositions pharmaceutiques qui renferment au moins un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène ci-dessus à titre de principe actif.

BEST AVAILABLE COPY

WO 03/084979 A2

Nouveaux peptides et leur application en thérapeutique

5 La présente invention concerne de nouveaux peptides et leur application en thérapeutique.

L'immunisation active anti-cytokine est une stratégie d'immunothérapie active développée depuis 1990 par Zagury et al. qui repose notamment sur la demande de brevet WO 92/22577.

10 Cette idée a été reprise par plusieurs équipes scientifiques qui ont publié dans des revues scientifiques internationales des immunisations actives contre la protéine entière d'IFN $\alpha$  multimérisée par traitement au glutaraldéhyde (Gringeri et al, JAIDS 1999;20:358-70), une protéine TNF $\alpha$  chimérique consistant au couplage de la protéine native du TNF $\alpha$  avec un  
15 épitope T de l'ovalbumine (Dalum et al, Nature Biotechnology, 1999;17:666-69), contre de l'IL9 entière couplée avec du KLH (Richard et al, PNAS, 2000;97:767-72) ou encore de l'IL5 entière chimérique avec un épitope T de toxine tétanique (Hertz et al, J. Immunol, 2001;167:3792-99).

Ces approches ont confirmé la faisabilité d'immunisations  
20 autologues anti-cytokines, mais ces quelques succès cachent les essais infructueux décrits par certains auteurs : certaines cytokines ne permettent pas d'obtenir d'anticorps suffisamment protecteurs et d'effet clinique, et la même cytokine préparée sous une forme efficace d'une façon ne le sera pas sous une autre (Richard et al, PNAS, 2000;97:767-72).

25 En essayant d'expliquer ce phénomène, la demanderesse a observé que jusqu'à présent tous les auteurs ont utilisé des cytokines entières (éventuellement légèrement modifiées), ce qui entraîne des difficultés notamment aux niveaux suivants :

- dilution du pouvoir immunogène des déterminants antigéniques d'intérêt  
30 (pour les réponses B et T)
- genèse possible d'anticorps facilitants in vivo (réponse B).

Il serait donc souhaitable de disposer d'antigènes permettant d'obtenir des anticorps suffisamment protecteurs vis-à-vis des cytokines, et limitant leur activité.

WO-A-98/51705 décrit des peptides de h RANTES, MIP1 $\alpha$  et  
5 MIP1 $\beta$  compris entre la deuxième et la troisième cystéine de ces chimiokines qui se lient au co-récepteur CCR5.

WO-A-98/34631 décrit des peptides issus de chaînes  $\gamma$  de récepteurs de cytokines utilisés pour bloquer la fixation de la cytokine ou l'activation du récepteur.

10 WO-A-94/01457 décrit des peptides de l'IFN  $\alpha$  utilisés comme substances porteuses de composés pharmaceutiques.

EP-A-0218531 décrit des peptides d'IL1 utilisés pour la préparation d'anticorps.

C'est pourquoi la présente demande a pour objet des peptides  
15 de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés, provenant d'une cytokine, caractérisés en ce que au moins un de ses acides aminés et de préférence au moins deux de ses acides aminés consécutifs comportent au moins un de ses atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, l'espacement d étant évalué sur  
20 des données structurales (par exemple cristallographie ou RMN) et de préférence en ce qu'ils induisent des anticorps interagissant avec ladite cytokine, à l'exception

- des peptides compris entre la 2<sup>e</sup> et la 3<sup>e</sup> cystéine de h RANTES, de MIP 1 $\alpha$  et de MIP 1 $\beta$ , et
- 25 - des peptides compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ .

A cause de leur longueur, les peptides de cytokine selon l'invention correspondent à un nombre limité d'épitopes de la cytokine, en général à un ou deux épitopes de la cytokine, et sont en conséquence dépourvus des nombreux autres épitopes qu'elles renferment.

30 Par "cytokine", on entend aussi bien les cytokines vraies que les cytokines chimio-attractives encore appelées chimiokines. On préfère les cytokines humaines. Par "interagissant" on signifie que ces anticorps, pae

exemple soit parce qu'ils reconnaissent la protéine native comme on peut le montrer par un test immunologique (ELISA, Western Blot), soit parce qu'ils bloquent la liaison de la cytokine à son récepteur comme on peut le montrer par un test d'activité biologique ou un test de compétition biochimique, ont un effet clinique bénéfique in vivo.

Parmi les cytokines, on peut citer par exemple le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\alpha$ , l'IL1  $\beta$ , le vEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15,18,23, l'IP10, les MIP 1 $\alpha$  et 1 $\beta$ , MCP1, et Rantes. Parmi les cytokines ci-dessus, on préfère le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le vEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15,23 ou toute combinaison de certaines de ces cytokines et tout particulièrement l'IL1  $\beta$ , le vEGF, le TNF  $\alpha$ , l'IL23 et l'IFN  $\alpha$  ou toute combinaison de certaines de ces cytokines.

Les peptides de cytokine selon l'invention proviennent ou dérivent d'une cytokine. Par "proviennent" l'on entend que leur séquence d'acides aminés est identique à celle de la cytokine. Par "dérivent" l'on entend que leur séquence d'acides aminés est majoritairement identique à celle de la cytokine mais comporte quelques différences comme on le verra ci-après.

Au moins un acide aminé des peptides de cytokine de l'invention et de préférence deux acides aminés consécutifs possède(nt) un de ses atomes espacé de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine. Il est avantageusement espacé de moins de 4,5 angströms, notamment espacé de moins de 4 angströms et particulièrement espacé de moins de 3,5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine.

En général l'atome concerné de l'acide aminé se trouve sur la chaîne latérale dudit acide aminé.

Dans des conditions préférentielles de mise en œuvre de l'invention 2, notamment 3 et de préférence 4 acides aminés consécutifs du peptide de cytokine répondent à ce même critère d'espacement.

Cet espacement est évalué sur des données structurales par exemple de cristallographie, ou encore par RMN qui donne des résultats similaires aux mesures cristallographiques.

Les peptides de cytokine ci-dessus comportent avantageusement plus de 8, notamment plus de 10, particulièrement plus de 12 et tout particulièrement plus de 15 acides aminés.

Dans d'autres conditions préférentielles de mise en œuvre de l'invention, les peptides de cytokine ci-dessus comportent moins de 35, avantageusement moins de 30, notamment moins de 25 et particulièrement moins de 20 acides aminés. Généralement les séquences les plus courtes correspondent à des peptides contenant un seul groupe d'au moins deux acides aminés consécutifs comportant au moins un de leurs atomes espacé de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, tandis que les séquences les plus longues correspondent en général à des peptides selon l'invention contenant deux ou même trois groupes ou plus de tels acides aminés consécutifs. En effet ces groupes peuvent être espacés par plusieurs, par exemple 10 acides aminés comme dans le cas de l'IL1 $\beta$ .

Parmi les peptides de cytokine ci-dessus, on retient notamment un ou plusieurs peptides choisis parmi ou provenant de ceux dont les noms suivent:

<p>- hIL1<math>\beta</math> (Human Interleukin 1 beta)</p> <p>1-APVRSLNCTL-10 (ID SEQ N° 1)</p> <p>29-LHLQGQDMEQQ-39 (ID SEQ N° 2)</p> <p>123-STSQAENMPV-132 (ID SEQ N° 3)</p>
<p>- hvEGF (Human vascular Endothelial Growth Factor)</p> <p>73-IMRIKPHQGQHIGEMS-88 (ID SEQ N° 4)</p>
<p>- hTNF<math>\alpha</math> (Human Tumor Necrosis Factor alpha)</p> <p>20-PQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEG-54 (ID SEQ N° 5)</p> <p>80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (ID SEQ N° 6)</p> <p>124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (ID SEQ N° 7)</p>
<p>- hIFN<math>\gamma</math> (Human Interferon gamma)</p> <p>1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36</p>

(ID SEQ N° 8) 118-MAELSPA AKTGKRKRS-133 (ID SEQ N° 9)
- hIL10 (Human Interleukin 10) 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKE-50 (ID SEQ N° 10)
- hIL4 (Human Interleukin 4) 5-ITLQEIIKTLNSL-17 (ID SEQ N° 11) 70-AQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAG-95 (ID SEQ N° 12)
- hIL12p40 (Human Interleukin 12 sous unité p40) 80-LLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTF LRCE-110 (ID SEQ N° 13) 135-KSSRGSSDPQG-145 (ID SEQ N° 14)
- hIL18 (Human Interleukin 18) 1-YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTD-35 (ID SEQ N° 15) 68-CEKISTLSCEN-78 (ID SEQ N° 16) 141-EDELGDRSIMFTVQNED-157 (ID SEQ N° 17)
- hIP10 (Human Interferon gamma inducible protein) 39-VEIIATM KKKGK RCLNPESKA-60 (ID SEQ N° 18)
- hIL5 (Human Interleukin 5) 1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (ID SEQ N° 19) 96-LQEFLGVMNTEWI-108 (ID SEQ N° 20)
- hTGFβ2 (Human Transforming Growth Factor beta type 2) 25-KRDLGWKWIHE-35 (ID SEQ N° 21) 87-TILYYIGKTPKIEQ -100 (ID SEQ N° 22)
- hIL15 (Human Interleukin 15) 1-ANWVNVISDLKKI-13 (ID SEQ N° 23) 74-SSNGNVTESGCKECEEEKNIKEFLQSFVHIVQMF -111 (ID SEQ N° 24)
- hIL6 (Human Interleukin 6) 28-KQIRYILDGISA-39 (ID SEQ N° 25)

114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (ID SEQ N° 26)
- hMIP1 $\alpha$ (Human Macrophage Inflammatory Protein alpha) 51-ADPSEEWVQKYVSDLELSA -69 (ID SEQ N° 27)
- hMIP1 $\beta$ (Human Macrophage Inflammatory Protein beta) 52-ADPSESWVQEYVYDLELN-69 (ID SEQ N° 28)
- hIL13 (Human Interleukin 13) 8-TALRELIEEL-17 (ID SEQ N° 29) 57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (ID SEQ N° 30)
- hIL23 (Human Interleukin 23) 52 GHMDLREEGDEETT 65 (ID SEQ N° 31) 115 LLPDSPVGQLHASLLGLSQ 133 (ID SEQ N° 32) 160 LLRFKILRSLQAFVAVAAARV 179 (ID SEQ N° 33)
- hRANTES (Human Regulated upon Activation Normal T-cell expressed) 51-ANPEKKWVREYINSLEMS-68 (ID SEQ N° 34)
- hIFN $\alpha$ (Human Interferon alpha) 12-RRTLMLLAQMRK-23 (ID SEQ N° 35) 95-LEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRK-121 (ID SEQ N° 36)

Les séquences qui précèdent ont été choisies dans les cytokines qui participent au développement de maladies humaines de par leur rôle dans la réponse inflammatoire ou la réponse immunitaire spécifique.

5 On retient tout particulièrement les peptides suivants :

- 123-STSQAEENMPV-132 de hIL1 $\beta$
- 73-IMRIKPHQGQHIGEMS de hvEGF
- 20-PQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEG-54 de hTNF $\alpha$
- 1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 de hIFN $\gamma$
- 10 - 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNLLLKE-50 de hIL10
- 70-AQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAG-95 de hIL4
- 1-YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTD-35 de hIL18

- 52 GHMDLREEGDEETT 65, 115 LLPDSPVGQLHASLLGLSQ 133 ou 160  
LLRFKILRSLQAFVAVAAARV 179 de hIL23.

Comme le sait l'homme de l'art de l'immunologie, des modifications des enchaînements peptidiques naturels sont possibles sans  
5 pour autant modifier la nature des propriétés immunologiques des peptides immunogènes. On peut donc citer également les dérivés de peptides de cytokine qui sont fortement homologues à ces séquences naturelles, par exemple ayant plus de 50% d'homologie, en particulier plus de 70% d'homologie, et de préférence plus de 80% d'homologie ou même plus de  
10 90% d'homologie avec le peptide natif correspondant tout en conservant les propriétés immunologiques de ce site épitopique du peptide natif. Leur zone d'homologie peut varier de 5 à 40 résidus, par exemple de 8 à 40 résidus, ou encore de 8 à 35 résidus, de préférence de 10 à 35 résidus mais aussi de 12 à 35 résidus, notamment de 12 à 30 résidus, en particulier de 15 à 30 résidus  
15 et tout particulièrement de 15 à 25 résidus.

Les dérivés des peptides de cytokine peuvent contenir des résidus modifiés, à condition que les modifications n'abaissent pas sensiblement l'immunogénicité, soit par addition de radicaux chimiques (méthyle, acétyle etc...) soit par modification stéréochimique (utilisation  
20 d'acides aminés de série D). Les dérivés peptidiques de cytokine doivent, comme les peptides de cytokine induire des anticorps interagissant avec la cytokine.

Les dérivés peptidiques de cytokine selon l'invention peuvent comporter une ou plusieurs modifications dans les acides aminés dont ils sont  
25 constitués telles que des délétions, substitutions, additions, ou fonctionnalisations (telles qu'acylation) d'un ou plusieurs acides aminés, dans la mesure où ces modifications restent dans le cadre précisé ci-dessus (caractères immunologiques). Par exemple, en général le remplacement d'un résidu leucine par un résidu isoleucine ne modifie pas de telles propriétés ; les  
30 modifications doivent généralement concerner moins de 40% d'acides aminés, notamment moins de 30% de préférence moins de 20% et tout particulièrement moins de 10% des acides aminés du peptide naturel. Il est



important que les anticorps induits par les peptides modifiés soient actifs vis à vis de la cytokine native.

Ces modifications sont à la portée de l'homme de l'art qui peut vérifier l'incidence des modifications par des tests simples. L'immunogénicité de tels dérivés modifiés peut être évaluée par ELISA après immunisation de souris, l'antigène testé par ELISA étant la cytokine entière ou le peptide de cytokine immunisant, ou par des tests de blocage de la liaison cytokine-récepteur. Les éventuelles modifications affectent de préférence moins de 8 acides aminés, avantageusement moins de 6 acides aminés, notamment moins de 4 acides aminés, et particulièrement 3 acides aminés ou moins comme 2 ou 1 seul acide aminé.

L'invention a encore pour objet un composé caractérisé en ce qu'il renferme au moins un peptide de cytokine ou dérivé de peptide de cytokine ci-dessus. Un tel composé peut comprendre des répétitions de peptides/dérivés identiques, ou des combinaisons de peptides/dérivés différents, que ce soit sous forme linéaire ou sous forme de structure en candélabre ou de couplages mixtes à des protéines porteuses. Un tel composé peut également se présenter sous forme cyclisée. Ainsi des peptides de cytokine ou les dérivés peptidiques de cytokine selon l'invention peuvent par exemple être insérés dans des séquences plus longues d'acides aminés donnant notamment une meilleure conformation ou combinés à des épitopes T exogènes (que ce soit pour des immunisations protéiques ou par ADN).

Ils peuvent avantageusement être associés de manière covalente à des protéines porteuses comme par exemple le KLH.

Comme on l'a vu, les peptides de cytokine selon l'invention correspondent en général à un petit nombre d'épitopes de la cytokine. Lorsqu'ils sont notamment insérés, combinés ou associés, les composés ci-dessus ne comportent pas d'autres épitopes de ladite cytokine.

Ces peptides de cytokine ou dérivés de cytokine pourront être inclus dans toute séquence de protéine qui ne comprendra pas d'homologie avec les autres épitopes de la cytokine naturelle. Par exemple, ils pourront

être les sites de liaison au récepteur, aux extrémités desquelles on ajoute simplement une cystéine pour conférer au peptide une structure cyclique. Un autre exemple est un peptide entouré de séquences d'épitopes T de la toxine tétanique. Encore un autre exemple pourra comprendre un peptide  
5 correspondant à la séquence du site de liaison au récepteur mais où certains acides aminés sont remplacés par leurs isomères de série D afin d'éviter leur effet agoniste. En effet, il pourra être éventuellement avantageux d'utiliser des dérivés peptidiques qui n'ont pas d'activité agoniste sur le récepteur afin que l'immunogène ne puisse pas interférer avec la réponse immunitaire.

10 De façon à augmenter la réponse immunitaire, ces peptides de cytokine ou dérivés de cytokine pourront être couplés à des protéines porteuses. Les méthodes de couplages et la protéine porteuse considérées pourront être différentes selon le peptide ciblé : il pourra s'agir par exemple de la protéine Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) et Tetanus Toxoid (TT)  
15 conjugués aux peptides par des méthodes chimiques bien connues de l'homme de l'art comme celles de couplage par le carbodiimide, ou par le glutaraldéhyde ou par la benzidine bis-diazotée. La réalisation de ces couplages pourra être facilitée par l'addition ou l'incorporation d'acides aminés à la séquence comme par exemple des lysines, des histidines, des tyrosines  
20 ou des cystéines. De tels composés peptidiques couplés à un épitope T exogène (provenant de plasmodium falciparum, de KLH, etc..) que ce soit de manière chimique ou de manière génétique entrent aussi dans le cadre de l'invention.

Des couplages en réseau de type en candélabre ou à des  
25 molécules telles que la transferrine ou la ferritine peuvent être aussi mis en œuvre pour stimuler efficacement la réponse immunitaire.

Les peptides selon l'invention peuvent être notamment produits par synthèse chimique ou par génie génétique ou par tout autre méthode adaptée. La synthèse de peptides cycliques, au besoin en greffant un ou  
30 plusieurs acides aminés en bout de chaîne comme des cystéines pour créer un pont disulfure permet de retrouver une partie de la structure secondaire

que ces fragments peptidiques possèdent dans la structure tridimensionnelle de la protéine.

Les peptides de cytokine, dérivés de cytokine et leurs composés selon l'invention possèdent de très intéressantes propriétés pharmacologiques.

5 Ils sont doués notamment de remarquables propriétés anti-cytokines. Ils sont en effet immunogènes et capables de générer chez un sujet des anticorps reconnaissant la cytokine native. Ces peptides ne contiennent pas les nombreux autres épitopes provenant de la cytokine à laquelle ils correspondent.

10 Ces propriétés sont illustrées ci-après dans la partie expérimentale. Elles justifient l'utilisation des peptides ci-dessus décrits à titre de médicament.

Le fait de se limiter à ces peptides proches du site de liaison au récepteur, à l'exclusion des autres épitopes des cytokines, donne notamment  
15 l'avantage de limiter la génération d'anticorps facilitants ou potentialisateurs de l'activité cytokinique. De plus, ils permettent d'augmenter la qualité de l'immunisation anticytokine car on limite le nombre de déterminants antigéniques ciblés.

C'est pourquoi l'invention a encore pour objet des médicaments  
20 caractérisés en ce qu'ils sont constitués des peptides de cytokine ou dérivés de cytokine ou composés tels que définis ci-dessus, c'est à dire des peptides de cytokine ou dérivés de cytokine ou composés immunogènes tels que définis ci-dessus, ou compris entre la 2<sup>e</sup> et la 3<sup>e</sup> cystéine de h RANTES ou compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ , pour leur utilisation  
25 dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal, ainsi que l'utilisation d'un tel peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement ou à la prévention des affections liées à un excès ou à la présence de cytokines.

30 Les médicaments selon la présente invention trouvent leur emploi par exemple dans le traitement tant curatif que préventif des maladies liées aux dérèglements du système immunitaire impliquant des surproductions de

cytokines comme par exemple les maladies auto-immunes (comprenant entre autres la sclérose en plaques, la polyarthrite rhumatoïde, le psoriasis, le diabète auto-immun, le lupus), l'allergie ou l'asthme, les cancers ou le SIDA. Ainsi il est clair que la lutte contre l'IL1 $\beta$  ou le TNF $\alpha$  peut-être utile dans la

5 polyarthrite rhumatoïde, la lutte contre l'IFN $\gamma$ , l'IL18, l'IL23 ou l'IL12 peut être utile dans la lutte contre la sclérose en plaques, ou le diabète auto-immun, la lutte contre l'IL4, l'IL5 et l'IL13 peut être utile contre l'allergie ou l'asthme, la lutte contre l'IL10 ou le vEGF peut être utile contre certains cancers. Plus généralement les dérèglements Th1/Th2 qui gouvernent la réponse

10 immunitaire elle-même et qui font classiquement intervenir IL12, IL2, IL4, IL6, IL10, IL13, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$  pourront bénéficier d'un réajustement de l'équilibre par l'immunisation active. Ce ne sont là que quelques exemples, et l'invention a aussi pour objet tout traitement du corps humain, basé sur une immunisation active (ADN ou peptide) impliquant les séquences peptidiques mentionnées

15 ci-dessus à l'exclusion des autres épitopes des cytokines. Ces séquences pourront être modifiées comme indiqué dans la présente description, et les immunisations par ADN se feront par simple traduction à partir du code génétique.

La réponse immunitaire humorale pourra être évaluée par des

20 tests ELISA ou des tests montrant l'inhibition de la liaison de la cytokine native à son récepteur. La réponse cellulaire pourra être évaluée en présence de tests de prolifération cellulaire face au peptide utilisé.

Les principes actifs immunogènes selon l'invention peuvent être utilisés comme suit :

25 On administre à un patient un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène selon la présente invention, par exemple par voie sous-cutanée ou intramusculaire, en quantité suffisante pour être efficace sur le plan thérapeutique, à un sujet ayant besoin d'un tel traitement. La dose administrée peut aller par exemple de 1 à 1000  $\mu$ g, notamment 10 à

30 500  $\mu$ g par voie sous-cutanée, une fois par mois pendant trois mois, puis périodiquement en fonction du taux des anticorps sériques induits, par exemple tous les 2-6 mois. On pourra administrer dans une même préparation

deux ou plusieurs molécules immunogènes différentes pour induire des anticorps neutralisant toutes les sites fonctionnels délétères au cas où une seule molécule immunogène ne porte pas tous les sites actifs de la cytokine surproduite que l'on veut neutraliser.

5 L'invention a aussi pour objet les compositions pharmaceutiques notamment les vaccins qui renferment au moins un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène précité, à titre de principe actif.

A titre de médicaments, un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène de l'invention peut être incorporé dans des  
10 compositions pharmaceutiques destinées à n'importe quelle voie conventionnelle en usage dans le domaine des vaccins, en particulier par voie sous-cutanée, par voie intramusculaire, par voie intraveineuse ou par voie orale. L'administration peut avoir lieu en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois après un certain intervalle de temps.

15 C'est pourquoi la présente demande a également pour objet une composition pharmaceutique, curative ou préventive, caractérisée en ce qu'elle comprend à titre de principe actif, un ou plusieurs peptides de cytokine ou dérivés de cytokine ou composés immunogènes nouveaux ou compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ , tel que définis ci-dessus.

20 L'agent immunogène peut être conditionné seul ou mélangé à un excipient ou mélange d'excipients pharmaceutiquement acceptables tel qu'un adjuvant. La présente demande a plus particulièrement pour objet un vaccin contenant à titre d'immunogène, un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène ci-dessus.

25 La présente invention a encore pour objet un procédé de préparation d'une composition ci-dessus décrite, caractérisé en ce que l'on mélange, selon des méthodes connues en elles mêmes, le ou les principes actifs avec des excipients acceptables, notamment pharmaceutiquement acceptables.

30 L'administration à un patient d'un un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène selon l'invention correspond à une immunothérapie active. Il peut être intéressant également de procéder à

une immunothérapie passive, c'est à dire de fournir à un patient directement des anticorps dont il a besoin.

Les préparations vaccinales pourront être conditionnées pour la voie intra nasale sous forme de gel avec comme excipient le carbopol, de gouttes nasales ou de spray et pour la voie orale sous forme de capsules  
5 gastrorésistantes, de dragées ou de granules gastrorésistants.

Dans le cas de vaccin ADN administré par voie systémique ou mucosale, la présentation galénique du plasmide pourra être une suspension dans un liquide physiologique tel le PBS physiologiques (tampon phosphate =  
10 PBS). Les plasmides pourront être inclus dans des microsphères de polymères biodégradable (PLG, PLA, PCL) et administrées dans des capsules gastrorésistantes pour ingestion (voie orale). L'ADN pourra également être exprimé dans un vecteur vivant bactérien, type salmonelle ou viral type adénovirus ou poxvirus.

15 La présente demande a enfin pour objet un procédé d'immunisation active de patients caractérisé en ce que l'on utilise à titre d'immunogène un peptide de cytokine ou dérivé de cytokine ou composé immunogène tel que défini ci-dessus avantageusement associé à un adjuvant d'immunité minéral, huileux ou de synthèse.

20 Les immunisations pourront se faire classiquement notamment par des peptides ou des composés immunogènes comme des conjugués de préférence en présence d'un adjuvant, par exemple l'ISA 51 ou l'Alun. Les immunisations pourront se faire à base d'ADN (séquences homologues aux sites de liaison combinées avec des épitopes T exogènes) en utilisant de  
25 l'ADN nu ou un vecteur d'expression contenant un promoteur adapté comme par exemple le pCR3.1. Les ADN administrés pourront être protégés des nucléases par l'utilisation de radicaux adéquats (CpG etc..). On pourra notamment faire suivre une immunisation initiale par ADN par des rappels classiques à l'aide des composés peptidiques.

30 Les conditions préférentielles de mise en œuvre des peptides ci-dessus décrits s'appliquent également aux autres objets de l'invention visés ci-dessus.

La figure 1 et la figure 2 qui est un agrandissement de la figure 1 représentent la structure cristallographique du peptide provenant de l'IL10 en contact avec son récepteur. On distingue la cytokine IL10 (à gauche) en contact avec son récepteur (à droite).

- 5 Sur la figure 2, on peut observer que les acides aminés marqués en noir sont espacés de moins de 4 Angströms ( $d$ =pointillé entre deux boules noires). Ils correspondent de bas en haut aux couples :
- 192IL10R Sérine vis-à-vis du 28IL10 Acide Aspartique ( $3.18\text{\AA}$ ) , 100IL10R Acide aspartique et 101IL10R acide glutamique vis-à-vis du 34IL10 Lysine  
10 (3.83A et 3.84A), et 94IL10R Asparagine vis-à-vis du 39IL10 Méthionine ( $3.70\text{\AA}$ ). Pour chaque acide aminé un point central a été déterminé comme étant le barycentre du carbone alpha de l'acide aminé considéré, de l'extrémité de la chaîne latérale et d'un troisième point choisi comme étant le plus extrême des deux précédents sur la chaîne latérale. La distance  $d$   
15 mesurée est la distance séparant les points centraux des acides aminés respectivement de la cytokine et de son récepteur. On peut évidemment définir les distances en utilisant d'autres méthodes usuelles.

Les exemples qui suivent illustrent la présente invention.

20 Exemple 1 :

Le peptide KLHLQGQDMEQQ (ID SEQ N° 37) a été synthétisé à partir de la séquence d'IL1 $\beta$  humaine, le résidu K a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde.

- 25 Cinq souris ont été immunisées en présence de l'adjuvant ISA51. Pour la première injection réalisée à J0, on prépare une émulsion de 40 $\mu$ g d'immunogène dans une quantité d'ISA51 suffisante pour préparer 100 $\mu$ l d'émulsion. Pour le rappel à J21 et à J40, on prépare 100 $\mu$ L d'émulsion contenant 20 $\mu$ g d'immunogène. Cinq souris ont été immunisées en parallèle  
30 comme contrôles avec du KLH dans le même adjuvant.

A J60, du sérum est prélevé et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.34	0.08	1.86	0.90	1.56	1.15
Contrôle	0.05	0.11	0.08	0.12	0.06	0.08

- 5 L'existence d'anticorps neutralisant la cytokine native a pu être évaluée de la façon suivante : 20 unités de cytokine IL1 $\beta$  native sont préincubées avec du sérum de souris (immunisée ou contrôle) dilué du 1/100<sup>ième</sup> au 1/2000<sup>ième</sup> pendant 2H à 37 °C. Le tout est ensuite ajouté à des cellules EL4, mises à 50 000 cellules en micropuits. La production d'IL2 est
- 10 évaluée après 24 heures dans le surnageant par un test ELISA sandwich (R&D diagnostics). Le pourcentage d'inhibition de la production d'IL2 indique le pourcentage de neutralisation de l'IL1 $\beta$ . Comme on peut le voir, on observe des réponses pour les souris immunisées mais pas pour les contrôles.

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	52%	25%	93%	86%	8%	52%
Contrôle	8%	-5%	11%	5%	12%	6%

15

#### Exemple 2 :

- On a immunisé 5 souris avec le peptide de synthèse **provenant** du vEGF humain : KPHQGQHIGEMS. (ID SEQ N° 38) Ce peptide a été
- 20 couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

- 25 L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :



Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.50	1.00	0.86	0.98	1.63	1.19
Contrôle	0.05	0.13	0.07	0.10	0.08	0.09

## Exemple 3 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide de synthèse **provenant** du TNF $\alpha$  humain qui est : KYQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQL.

- 5 (ID SEQ N° 39) Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au diazobenzidine. Les résidus K et Y ont été ajoutés à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec
- 10 la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.64	1.14	1.96	1.02	0.78	1.31
Contrôle	0.11	0.16	0.09	0.11	0.18	0.13

- 15 L'existence d'anticorps neutralisant la cytokine native a pu être évaluée de la façon suivante : 50 unités de cytokine TNF $\alpha$  native sont préincubées avec du sérum de souris (immunisée ou contrôle) dilué au 1/200<sup>ième</sup> pendant 2H à 37 °C. Le tout est ensuite ajouté à des cellules L929, mise à 25 000 cellules par micropuits. La lyse des cellules est évaluée après
- 20 24 heures par coloration au naphthol blue black (Sigma). Le pourcentage d'inhibition de la lyse indique le pourcentage de neutralisation du TNF $\alpha$ , et comme on peut voir, on observe des réponses pour les souris immunisées mais pas les contrôles.

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	88%	12%	93%	36%	79%	61%
Contrôle	5%	6%	14%	5%	1%	6%

## Exemple 4 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide provenant de l'IFN $\gamma$  humain qui est : KKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN (ID SEQ N° 40). Ce peptide a été synthétisé chimiquement sous forme de MAPS. Ce peptide MAPS a ensuite été couplé à la protéine porteuse Tétanus Toxoid par réaction au glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.56	1.05	0.98	1.80	1.64	1.41
Contrôle	0.10	0.12	0.23	0.08	0.09	0.12

L'existence d'anticorps neutralisant la cytokine native a pu être évaluée de la façon suivante : 100 unités de cytokine native sont pré incubées avec du sérum de souris (immunisée ou contrôle) dilué du 1/250<sup>ème</sup> pendant 2H à 37 °C. Le tout est ensuite ajouté à des cellules RAW 264.7, mises à 300 000 cellules dans des puits de 2 ml. L'expression de CMH de classe II sur les cellules est évaluée par cytométrie de flux après 24 heures, par marquage avec des anticorps anti-CMH de classe II couplés à la fluorescéine. Le pourcentage d'inhibition de l'expression du CMH de classe II indique le pourcentage de neutralisation de l'IFN $\gamma$ , et comme on peut voir, on observe des inhibitions pour les souris immunisées mais pas les contrôles. Le seuil de signification pour ces expériences est de 30%.

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	40%	89%	67%	38%	83%	63%
Contrôle	25%	14%	-10%	29%	7%	13%

## Exemple 5 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide provenant de l'IL10 humaine qui est : DECNMLRDLRDAFSRVKTFFQMKDQLDNC (ID SEQ N° 41). Ce peptide a été synthétisé chimiquement, et une cystéine a été ajoutée à chaque extrémité de sorte à en faire un peptide cyclique. Ce peptide a ensuite été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au carbodiimide. Le résidu DE a aussi été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par réaction au carbodiimide. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.94	0.96	1.85	0.97	1.5	1.44
Contrôle	0.29	0.52	0.17	0.26	0.36	0.32

## Exemple 6 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL4 humaine qui est : KQLIRFLKRLDRNLWGLAG (ID SEQ N° 42). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.06	1.25	0.95	0.87	1.24	1.07
Contrôle	0.34	0.09	0.26	0.16	0.12	0.19

## Exemple 7 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL12p40 humaine qui est : KKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCE  
 5 (ID SEQ N° 43). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse Tetanos Toxoïde par réaction au benzidine bis-diazoté (diazoté). Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

10 L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	0.95	1.06	1.58	1.14	0.87	1.12
Contrôle	0.06	0.12	0.09	0.05	0.09	0.08

## Exemple 8 :

15 On a immunisé 5 souris avec le peptide provenant de l'IL18 humaine qui est : KYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFID (ID SEQ N° 44). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Le résidu K a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après  
 20 immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

25 L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.85	1.13	0.99	1.24	1.54	1.35
Contrôle	0.31	0.09	0.27	0.16	0.24	0.21

## Exemple 9 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide synthétique provenant de l'IP10 humain qui est : KKKGEKRCLNPESKA (ID SEQ N° 45). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse Tetanos Toxoïde par réaction au glutaraldéhyde. Les trois résidus K présents dans la séquence naturelle permettent une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.16	0.98	1.24	1.09	0.88	1.07
Contrôle	0.32	0.21	0.11	0.20	0.09	0.19

## Exemple 10 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL5 humaine qui est : KLQEFLGVMNTEWI (ID SEQ N° 46). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au glutaraldéhyde. Le résidu K a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison au KLH par couplage à l'aide de glutaraldéhyde. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.25	1.21	1.87	1.10	0.88	1.26
Contrôle	0.51	0.21	0.42	0.09	0.38	0.32

## Exemple 11:

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à le TGFβ2 humain qui est : DTILYYIGKTPKIE (ID SEQ N° 47). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse KLH par réaction au carbodiimide. Le résidu D a été ajouté à la séquence naturelle pour permettre une liaison par couplage. Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	0.95	1.15	0.99	1.17	1.08	1.07
Contrôle	0.40	0.09	0.35	0.26	0.29	0.28

## Exemple 12 :

On a immunisé 5 souris avec le peptide correspondant à l'IL6 humaine qui est : KQIRYILDGISA (ID SEQ N° 25). Ce peptide a été couplé à la protéine porteuse TT par réaction au benzidine bis-diazoté (diazoté). Après immunisation dans les mêmes conditions que dans l'exemple 1, du sérum est prélevé à J60 et des tests ELISA sont réalisés avec la cytokine native pour révéler la présence d'anticorps.

L'absorbance moyenne obtenue pour chaque souris est présentée dans le tableau ci-dessous :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.11	1.27	1.02	1.34	0.32	1.01
Contrôle	0.11	0.15	0.29	0.14	0.21	0.21

## Exemple 13

- Les ADN correspondants aux peptides 1-APVRSLNCTL-10 (GCACCTGTACGATCACTGAACTGCACGCTC) (ID SEQ N° 48), 29-  
5 LHLQGQDMEQQ-39 (CTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAA) (ID SEQ N° 49) et 123-STSQAENMPV-132 (AGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCGTC) (ID SEQ N° 50) de l'IL1 $\beta$  ont été synthétisés et sont séparés des épitopes T de la toxine tétanique : AQYIKANSKFIGITEL (ID SEQ N° 55)  
10 (CAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCGGTATCACTGAGCTG) (ID SEQ N° 51) et du KLH : VDTVVRKNVDSL (GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT) (ID SEQ N° 52), par des écarteurs GYG (GGCTACGGC) (ID SEQ N° 54).  
15 La séquence nucléotidique finale est la suivante:  
GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCGCACCTG  
TACGATCACTGAACTGCACGCTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAA  
AAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCCTCCACCTCCAGGGACAGGATATG  
GAGCAACAAGGCTACGGCCAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCG  
20 GTATCACTGAGCTGGGCTACGGCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCC  
CGTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT  
(ID SEQ N° 53).

Cette séquence d'ADN, clonée dans pRSET-A, code donc pour un polypeptide composé qu'on produit et purifie par génie génétique sous  
25 forme de protéine de fusion poly-Histidine. Ce polypeptide est utilisé comme immunogène comme dans l'exemple 1.

La réponse anticorps des souris est mesurée contre l'IL1 $\beta$  native par ELISA et on trouve les valeurs suivantes :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	0.86	0.73	1.68	1.55	1.83	1.33
Contrôle	0.23	0.11	0.21	0.29	0.17	0.20

## Exemple 14.

- Les ADNc correspondants aux peptides 1-APVRSLNCTL-10 (GCACCTGTACGATCACTGAACTGCACGCTC) (ID SEQ N° 48), 29-  
5 LHLQGQDMEQQ-39 (CTCCACCTCCAGGGACAGGATATGGAGCAACAA) (ID SEQ N° 49) et 123-STSQAENMPV-132 (AGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCCCGTC) (ID SEQ N° 50) de l'IL1 $\beta$  ont été synthétisés et sont séparés des épitopes T de la toxine tétanique AQYIKANSKFIGITEL  
10 (CAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCGGTATCACTGAGCTG) (ID SEQ N° 51) et du KLH :  
VDTVVRKNVDSL (GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT) (ID SEQ N° 52)  
15 par des spacers GYG.  
La séquence finale est la suivante:  
GTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCGCACCTG  
TACGATCACTGAACTGCACGCTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAA  
AAATGTTGACTCCCTTGGCTACGGCCTCCACCTCCAGGGACAGGATATG  
20 GAGCAACAAGGCTACGGCCAGTACATCAAGGCTAACTCCAAGTTCATCG  
GTATCACTGAGCTGGGCTACGGCAGCACCTCTCAAGCAGAAAACATGCC  
CGTCGGCTACGGCGTTGACACCACCAGAAAAAATGTTGACTCCCTT  
(ID SEQ N° 53).  
Cette séquence d'ADN, clonée dans pCR3.1, code donc pour un polypeptide  
25 IL1b sous contrôle du promoteur du CMV.

On réalise une première injection intra-musculaire en injectant 100  $\mu$ g de vecteur dans une solution saline de 100  $\mu$ l. On réalise 2 rappels à J21 et J40 avec le peptide de l'exemple 13 (immunisation du type "prime-



boost"). A J60 la réponse anticorps est évaluée par test ELISA sur la cytokine native sur les 5 souris immunisées et les 5 souris contrôle.

Le résultat est le suivant :

Souris	1	2	3	4	5	Moyenne
Peptide	1.54	0.35	1.88	1.64	0.24	1.13
Contrôle	0.13	0.11	0.18	0.08	0.23	0.14

5

Exemple 15.

Le vaccin est formé d'une émulsion eau dans huile constituée de 50 % d'ISA 51 (Seppic, Paris) et de 50 % d'une solution aqueuse de peptide de l'exemple 1 (50 µg/dose).

10

Exemple 16 : Vaccin à base de l'immunogène plasmidique pour vaccination ADN de type systémique IL10.

Des plasmides codant pour les peptides APVRSLNCTL et LHLQGQDMEQQ de l'IL1β (20 µg/dose) ont été mis en suspension dans 0,2 ml de PBS pour administration intramusculaire.

15

Exemple 17.

On a préparé un vaccin formé d'une émulsion eau dans huile de 50 % d'ISA (SEPPIC, Paris) et de 50 % d'une solution aqueuse du peptide de synthèse KYQAEGLQLQWLNRRANALLANGVELRDNQL dérivé de TNFα humain couplé au KLH (100 µg/dose).

20

REVENDICATIONS

1. Un peptide de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés, provenant d'une cytokine, caractérisé en ce que au moins un de ses acides aminés
- 5 aminés comporte au moins un de ses atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, l'espacement d étant évalué sur des données structurales, à l'exception
- des peptides compris entre la 2<sup>e</sup> et la 3<sup>e</sup> cystéine de h RANTES, de MIP
  - 10 1 $\alpha$  et MIP 1 $\beta$ , et
  - des peptides compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ .
2. Un peptide selon la revendication 1, caractérisé en ce que deux de ses acides aminés consécutifs comportent au moins un de leurs atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur
- 15 correspondant à ladite cytokine
3. Un peptide selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les fragments des cytokines suivantes : le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le VEGF, le TNF  $\alpha$ , les IFN  $\alpha$  et  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15,18,23, l'IP10, les MIP 1 $\alpha$  et 1 $\beta$ , et Rantes.
- 20 4. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi les fragments des cytokines suivantes : le TGF  $\beta$ , l'IL1  $\beta$ , le VEGF, le TNF  $\alpha$ , l'IFN  $\gamma$ , les IL 4,5,6,10,12,13,15,18,23,.
5. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que d est inférieur à 4 angströms.
- 25 6. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 5 caractérisé en ce que 3 ou 4 acides aminés consécutifs du peptide de cytokine répondent à ce même critère d'espacement.
7. Un peptide selon l'une des revendications 1 à 6 caractérisé en ce qu'il comporte moins de 30 acides aminés.
- 30 8. Un peptide tel que défini à la revendication 1, choisi parmi ou provenant de ceux dont les noms suivent :

- hIL1 $\beta$ (Human Interleukin 1 beta) 1-APVRSLNCTL-10 (ID SEQ N° 1) 29-LHLQGQDMEQQ-39 (ID SEQ N° 2) 123-STSQAENMPV-132 (ID SEQ N° 3)
- hvEGF (Human vascular Endothelial Growth Factor) 73-IMRIKPHQGQHIGEMS-88 (ID SEQ N° 4)
- hTNF $\alpha$ (Human Tumor Necrosis Factor alpha) 20-PQAEGQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEG-54 (ID SEQ N° 5) 80-ISRIAVSYQTKVNLLS-95 (ID SEQ N° 6) 124-FQLEKGDRLSAEINR-138 (ID SEQ N° 7)
- hIFN $\gamma$ (Human Interferon gamma) 1-MQDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKN-36 (ID SEQ N° 8) 118-MAELSPAAGTKGRKRS-133 (ID SEQ N° 9)
- hIL10 (Human Interleukin 10) 20-PNMLRDLRDAFSRVKTFQMKDQLDNLLLKE-50 (ID SEQ N° 10)
- hIL4 (Human Interleukin 4) 5-ITLQEIIKTLNSL-17 (ID SEQ N° 11) 70-AQQFHRHKQLIRFLKRLDRNLWGLAG-95 (ID SEQ N° 12)
- hIL12p40 (Human Interleukin 12 sous unité p40) 80-LLLHKKEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCE-110 (ID SEQ N° 13) 135-KSSRGSSDPQG-145 (ID SEQ N° 14)
- hIL18 (Human Interleukin 18) 1-YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTD-35 (ID SEQ N° 15) 68-CEKISTLSCEN-78 (ID SEQ N° 16) 141-EDELGDRSIMFTVQNED-157 (ID SEQ N° 17)
- hIP10 (Human Interferon gamma inducible protein)

39-VEIIATMKKKGKCRCLNPESKA-60 (ID SEQ N° 18)
- hIL5 (Human Interleukin 5) 1-IPTSALVKETLALLSTHRTLLIANET-26 (ID SEQ N° 19) 96-LQEFLGVMNTEWI-108 (ID SEQ N° 20)
- hTGF $\beta$ 2 (Human Transforming Growth Factor beta type 2) 25-KRDLGWKWIHE-35 (ID SEQ N° 21) 87-TILYYIGKTPKIEQ -100 (ID SEQ N° 22)
- hIL15 (Human Interleukin 15) 1-ANWVNVISDLKKI-13 (ID SEQ N° 23) 74-SSNGNVTESGCKECEEEKNIKEFLQSFVHIVQMF-111 (ID SEQ N° 24)
- hIL6 (Human Interleukin 6) 28-KQIRYILDGISA-39 (ID SEQ N° 25) 114-RAVQMSTKVLIQFLQKKAKNLDAITTPDPTTNASLL-149 (ID SEQ N° 26)
- hMIP1 $\alpha$ (Human Macrophage Inflammatory Protein alpha) 51-ADPSEEWVQKYVSDLELSA -69 (ID SEQ N° 27)
- hMIP1 $\beta$ (Human Macrophage Inflammatory Protein beta) 52-ADPSESWVQEYVYDLELN-69 (ID SEQ N° 28)
- hIL13 (Human Interleukin 13) 8-TALRELIEEL-17 (ID SEQ N° 29) 57-CSAIEKTQRMLSGFCPHKVSAGQFSS-82 (ID SEQ N° 30)
- hIL23 (Human Interleukin 23) 52 GHMDLREEGDEETT 65 (ID SEQ N° 31) 115 LLPDSPVGQLHASLLGLSQ 133 (ID SEQ N° 32) 160 LLRFKILRSLQAFVAVAARV 179 (ID SEQ N° 33)
- hRANTES (Human Regulated upon Activation Normal T-cell expressed) 51-ANPEKKWVREYINSLEMS-68 (ID SEQ N° 34)
- hIFN $\alpha$ (Human Interferon alpha) 12-RRTLMLLAQMRK-23 (ID SEQ N° 35) 95-LEACVIQGVGVGTETPLMKEDSILAVRK-121 (ID SEQ N° 36)

ou un fragment desdits peptides.

9. Un dérivé d'un peptide tel que défini à l'une des revendications 1 à 8 par délétion, substitution, addition, cyclisation, modification stéréochimique (utilisation d'acides aminés de série D). ou fonctionnalisation (telle qu'acylation) d'un ou plusieurs acides aminés dudit peptide.

5 10. Un composé immunogène caractérisé en ce qu'il comprend un peptide ou dérivé d'un peptide tel que défini à l'une des revendications 1 à 9, étant entendu qu'il ne comporte pas d'autres épitopes de ladite cytokine et en ce qu'il est capable de générer chez un sujet des anticorps reconnaissant la cytokine native.

10 11. Un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 ou compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ , pour son utilisation dans une méthode de traitement thérapeutique du corps humain ou animal.

15 12. Utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 ou compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ , pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement ou à la prévention des affections liées à un excès ou à la présence de cytokines.

20 13. Utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 ou compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ , pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement d'une maladie auto-immune.

25 14. Une composition pharmaceutique qui renferme au moins un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène tel que défini à l'une des revendications 1 à 10 ou compris entre les acides aminés 123 et 140 de l'IFN  $\alpha$ , à titre de principe actif.

1/1

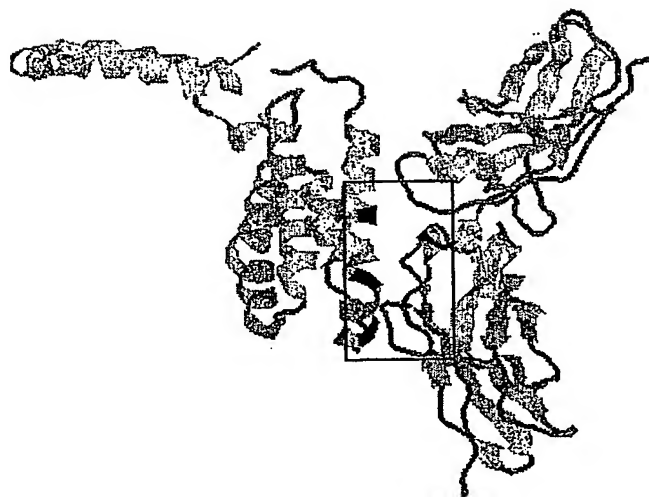


Figure 1

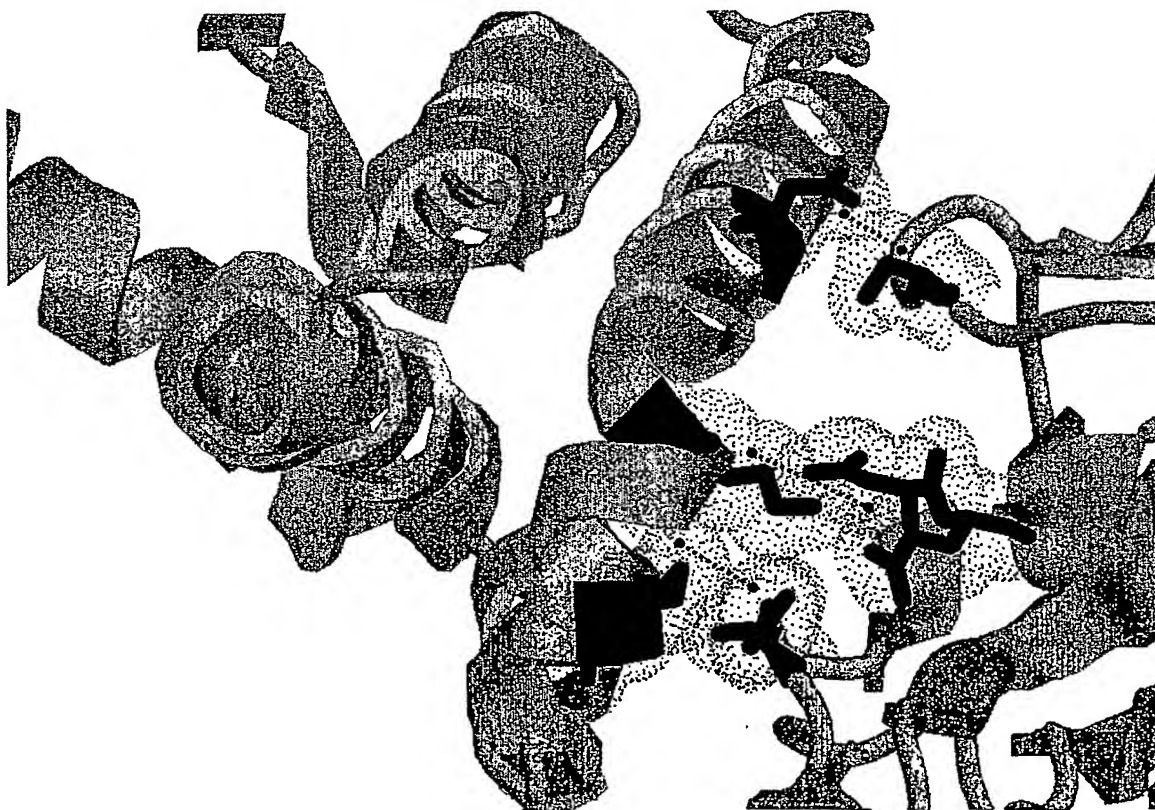


Figure 2

## SEQUENCE LISTING

<110> Jean-François, ZAGURY

<120> Peptides issus de cytokines et leur application en thérapeutique

<130> bif022175 pct

<160> 55

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Ala Pro Val Ala Ser Leu Ala Cys Thr Leu  
1 5 10

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Leu His Leu Gln Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln  
1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Ser Thr Ser Gln Ala Glu Asn Met Pro Val  
1 5 10

<210> 4

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Ile Met Arg Ile Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser  
1 5 10 15

<210> 5

<211> 35

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Pro Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn Ala  
1 5 10 15

Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu Val Val Pro  
20 25 30

Ser Glu Gly  
35

<210> 6  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 6

Ile Ser Arg Ile Ala Val Ser Tyr Gln Thr Lys Val Asn Leu Leu Ser  
1 5 10 15

<210> 7  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 7

Phe Gln Leu Glu Lys Gly Asp Arg Leu Ser Ala Glu Ile Asn Arg  
1 5 10 15

<210> 8  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu Asn Leu Lys Lys Tyr Phe  
1 5 10 15

Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr Leu Phe Leu Gly  
20 25 30

Ile Leu Lys Asn  
35

<210> 9  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Ala Glu Leu Ser Pro Ala Ala Lys Thr Gly Lys Arg Lys Arg Ser  
1 5 10 15



<210> 10  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 10

Pro Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val Lys Thr  
1 5 10 15

Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Leu Leu Leu Lys Glu  
20 25 30

<210> 11  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 11

Ile Thr Leu Gln Glu Ile Ile Lys Thr Leu Asn Ser Leu  
1 5 10

<210> 12  
<211> 26  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 12

Ala Gln Gln Phe His Arg His Lys Gln Leu Ile Arg Phe Leu Lys Arg  
1 5 10 15

Leu Asp Arg Asn Leu Trp Gly Leu Ala Gly  
20 25

<210> 13  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 13

Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu  
1 5 10 15

Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu Arg Cys Glu  
20 25 30

<210> 14  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

&lt;400&gt; 14

Lys Ser Ser Arg Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly  
1 5 10

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 35

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 15

Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu Asn  
1 5 10 15

Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp Gln Gly Asn Arg Pro Leu Phe Glu Asp  
20 25 30

Met Thr Asp  
35

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 11

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 16

Cys Glu Lys Ile Ser Thr Leu Ser Cys Glu Asn  
1 5 10

&lt;210&gt; 17

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 17

Glu Asp Glu Leu Gly Asp Arg Ser Ile Met Phe Thr Val Gln Asn Glu  
1 5 10 15

Asp

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 24

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 18

Val Glu Ile Ile Ala Thr Met Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Cys Arg  
1 5 10 15

Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys Ala

20

<210> 19  
<211> 26  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 19

Ile Pro Thr Ser Ala Leu Val Lys Glu Thr Leu Ala Leu Leu Ser Thr  
1 5 10 15

His Arg Thr Leu Leu Ile Ala Asn Glu Thr  
20 25

<210> 20  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 20

Leu Gln Glu Phe Leu Gly Val Met Asn Thr Glu Trp Ile  
1 5 10

<210> 21  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 21

Lys Arg Asp Leu Gly Trp Lys Trp Ile His Glu  
1 5 10

<210> 22  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 22

Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu Gln  
1 5 10

<210> 23  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 23

Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile  
1 5 10

<210> 24

<211> 36  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 24

Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu  
1 5 10 15

Leu Glu Lys Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile  
20 25 30

Val Gln Met Phe  
35

<210> 25  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 25

Lys Gln Ile Arg Tyr Ile Leu Asp Gly Ile Ser Ala  
1 5 10

<210> 26  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 26

Arg Ala Val Gln Met Ser Thr Lys Val Leu Ile Gln Phe Leu Gln Lys  
1 5 10 15

Lys Ala Lys Asn Leu Asp Ala Ile Thr Thr Pro Asp Pro Thr Thr Asn  
20 25 30

Ala Ser Leu Leu  
35

<210> 27  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 27

Ala Asp Pro Ser Glu Glu Trp Val Gln Lys Tyr Val Ser Asp Leu Glu  
1 5 10 15

Leu Ser Ala

<210> 28  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 28

Ala Asp Pro Ser Glu Ser Trp Val Gln Glu Tyr Val Tyr Asp Leu Glu  
1 5 10 15

Leu Asn

<210> 29  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 29

Thr Ala Leu Arg Glu Leu Ile Glu Glu Leu  
1 5 10

<210> 30  
<211> 26  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 30

Cys Ser Ala Ile Glu Lys Thr Gln Arg Met Leu Ser Gly Phe Cys Pro  
1 5 10 15

His Lys Val Ser Ala Gly Gln Phe Ser Ser  
20 25

<210> 31  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 31

Gly His Met Asp Leu Arg Glu Glu Gly Asp Glu Glu Thr Thr  
1 5 10

<210> 32  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 32

Leu Leu Pro Asp Ser Pro Val Gly Gln Leu His Ala Ser Leu Leu Gly  
1 5 10 15

Leu Ser Gln

<210> 33  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 33

Leu Leu Arg Phe Lys Ile Leu Arg Ser Leu Gln Ala Phe Val Ala Val  
1 5 10 15

Ala Ala Arg Val  
20

<210> 34  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 34

Ala Asn Pro Glu Lys Lys Trp Val Arg Glu Tyr Ile Asn Ser Leu Glu  
1 5 10 15

Met Ser

<210> 35  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 35

Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys  
1 5 10

<210> 36  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens  
  
<400> 36

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu  
1 5 10 15

Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys  
20 25

<210> 37  
<211> 12  
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Lys Leu His Leu Gln Gly Gln Asp Met Glu Gln Gln  
1 5 10

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Lys Pro His Gln Gly Gln His Ile Gly Glu Met Ser  
1 5 10

<210> 39

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Lys Tyr Gln Ala Glu Gly Gln Leu Gln Trp Leu Asn Arg Arg Ala Asn  
1 5 10 15

Ala Leu Leu Ala Asn Gly Val Glu Leu Arg Asp Asn Gln Leu  
20 25 30

<210> 40

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Lys Lys Tyr Phe Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr  
1 5 10 15

Leu Phe Leu Gly Ile Leu Lys Asn  
20

<210> 41

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Asp Glu Cys Asn Met Leu Arg Asp Leu Arg Asp Ala Phe Ser Arg Val  
1 5 10 15

Lys Thr Phe Phe Gln Met Lys Asp Gln Leu Asp Asn Cys  
20 25

<210> 42  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 42

Lys Gln Leu Ile Arg Phe Leu Lys Arg Leu Asp Arg Asn Leu Trp Gly  
1 5 10 15

Leu Ala Gly

<210> 43  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 43

Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys  
1 5 10 15

Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe Leu Arg Cys Glu  
20 25

<210> 44  
<211> 24  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 44

Lys Tyr Phe Gly Lys Leu Glu Ser Lys Leu Ser Val Ile Arg Asn Leu  
1 5 10 15

Asn Asp Gln Val Leu Phe Ile Asp  
20

<210> 45  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 45

Lys Lys Lys Gly Glu Lys Arg Lys Arg Cys Leu Asn Pro Glu Ser Lys  
1 5 10 15

Ala

<210> 46  
<211> 14



<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 46

Lys Leu Gln Glu Phe Leu Gly Val Met Asn Thr Glu Trp Ile  
1 5 10

<210> 47  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 47

Asp Thr Ile Leu Tyr Tyr Ile Gly Lys Thr Pro Lys Ile Glu  
1 5 10

<210> 48  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 48  
gcacctgtac gatcactgaa ctgcacgctc  
30

<210> 49  
<211> 32  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 49  
ctccacctcc aggacaggat atggagcaac aa  
32

<210> 50  
<211> 30  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 50  
agcacctctc aagcagaaaa catgcccgctc  
30

<210> 51  
<211> 45  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 51  
cagtacatca aggctaactc caagttcatc ggtatcactg agctg  
45

<210> 52  
<211> 33  
<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 52

gttgacacca ccagaaaaaa tgttgactcc ctt  
33

<210> 53

<211> 291

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 53

gttgacacca ccagaaaaaa tgttgactcc cttggctacg ggcacactgt acgatcactg  
60

aactgcacgc tcggctacgg cggtgacacc accagaaaaa atgttgactc ccttggctac  
120

ggcctccacc tccagggaca ggatatggag caacaaggct acggccagta catcaaggct  
180

aactccaagt tcacgggtat cactgagctg ggctacggca gcacctctca agcagaaaac  
240

atgcccgtcg gctacggcgt tgacaccacc agaaaaaatg ttgactccct t  
291

<210> 54

<211> 9

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 54

ggctacggc  
9

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Ala	Gln	Tyr	Ile	Lys	Ala	Asn	Ser	Lys	Phe	Ile	Gly	Ile	Thr	Glu	Leu
1				5					10					15	

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international(43) Date de la publication internationale  
16 octobre 2003 (16.10.2003)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
WO 2003/084979 A3(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> :

C07K 14/52, A61K 38/19, 39/00, A61P 37/00

(21) Numéro de la demande internationale :

PCT/FR2003/001120

(22) Date de dépôt international : 9 avril 2003 (09.04.2003)

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :

02/04464

10 avril 2002 (10.04.2002) FR

(71) Déposant et

(72) Inventeur : ZAGURY, Jean-François [FR/FR]; 117, rue  
Vieille du Temple, F-75003 Paris (FR).(74) Mandataire : SANTARELLI; 14, avenue de la Grande-  
Armée, B.P. 237, F-75822 Paris Cedex 17 (FR).(81) États désignés (national) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ,  
BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ,DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG,  
SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC,  
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (régional) : brevet ARIPO (GH, GM, KE,

LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet  
eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet  
européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,  
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,  
TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

(88) Date de publication du rapport de recherche  
internationale:

8 avril 2004

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abrévia-  
tions, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et  
abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de  
la Gazette du PCT.*

(54) Title: NOVEL PEPTIDES AND THE APPLICATION THEREOF IN THERAPY

(54) Titre : PEPTIDES ET LEUR APPLICATION EN THERAPEUTIQUE

(57) Abstract: The invention relates to a peptide which comprises between 5 and 40 amino acids, is obtained from a cytokine, and in which at least one of the amino acids contains at least one atom that is spaced (d) less than 5 angstroms from an atom of the receptor corresponding to said cytokine, the spacing (d) being evaluated on structural data, derivatives thereof, and an immunogenic compound comprising said peptide or peptide derivatives, the use of a peptide or peptide derivative or immunogenic compound for preparing a therapeutic or prophylactic medicament used for treating or preventing diseases that are associated with an excess or the presence of cytokines or for treating an autoimmune disease, and pharmaceutical compositions containing at least one inventive peptide or peptide derivative or immunogenic compound as an active principle.

(57) Abrégé : Peptide de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés, provenant d'une cytokine, dans lequel au moins un de ses acides aminés comporte au moins un de ses atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à ladite cytokine, l'espacement d étant évalué sur des données structurales, dérivés, composé immunogènes les comprenant, utilisation d'un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène pour la préparation d'un médicament curatif ou préventif destiné au traitement ou à la prévention des affections liées à un excès ou à la présence de cytokines ou au traitement d'une maladie auto-immune et compositions pharmaceutiques qui renferment au moins un peptide ou dérivé d'un peptide ou composé immunogène ci-dessus à titre de principe actif.

WO 2003/084979 A3

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K14/52 A61K38/19 A61K39/00 A61P37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>FAIRBROTHER W J ET AL: "NOVEL PEPTIDES SELECTED TO BIND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR TARGET THE RECEPTOR-BINDING SITE"</p> <p>BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, PA, US, vol. 37, no. 51, 22 December 1998 (1998-12-22), pages 17754-17764, XP000876734</p> <p>ISSN: 0006-2960</p> <p>abstract</p> <p>page 17754, right-hand column, paragraph 3</p> <p>page 17759, left-hand column, paragraph 2</p> <p>- page 17760, left-hand column, paragraph 1; table 1</p> <p>-----</p> <p>-/--</p>	1

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 October 2003

Date of mailing of the international search report

09.01.2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mateo Rosell, A.M.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 98/01120

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98/51705 A (LUSSO PAOLO ;SAN RAFFAELE CENTRO FOND (IT)) 19 November 1998 (1998-11-19) abstract page 4, lines 5-29 page 5, line 7 - page 6, line 20 -----	1
X	WO 98/34631 A (UNIV JEFFERSON) 13 August 1998 (1998-08-13) abstract page 3, line 1 - page 6, line 8; examples 1,2 -----	1
X	WO 94/01457 A (FISH ELEANOR N) 20 January 1994 (1994-01-20) abstract page 2, paragraph 3 - page 4, paragraph 1; figure 5; table 1 -----	1,11-14
X	EP 0 218 531 A (MERCK & CO INC) 15 April 1987 (1987-04-15) page 2, columns 1-40 sentence 5; table I sentence 10; table II sentences 5-10; examples 1-4; table III -----	1,3,4,7, 8,10,14
A	WO 00/47620 A (LOPEZ ANGEL FRANCISCO ;WOODCOCK JOANNA MAY (AU); ROSSJOHN JAMIE (A) 17 August 2000 (2000-08-17) abstract page 2, line 25 - page 5, line 10 page 8, line 25 - page 21, line 2; examples 1,2; tables 1,2 -----	1
A	BRAVO JERONIMO ET AL: "Receptor recognition by gp130 cytokines." EMBO (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY ORGANIZATION) JOURNAL, vol. 19, no. 11, 1 June 2000 (2000-06-01), pages 2399-2411, XP002235426 ISSN: 0261-4189 page 2403, right-hand column, last paragraph - page 2406, right-hand column, paragraph 1 page 2408, left-hand column, paragraph 2 - right-hand column, last paragraph ----- -/--	1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/JP 01/120

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHA SUN-SHIN ET AL: "Crystal structure of TRAIL-DR5 complex identifies a critical role of the unique frame insertion in conferring recognition specificity." JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 275, no. 40, 6 October 2000 (2000-10-06), pages 31171-31177, XP002235427 ISSN: 0021-9258 page 31174, right-hand column, paragraph 3 - left-hand column, paragraph 1; figure 4	1
A	CHAIKEN I M ET AL: "Identifying structure-function relationships in four-helix bundle cytokines: towards de novo mimetics design." TRENDS IN BIOTECHNOLOGY. ENGLAND OCT 1996, vol. 14, no. 10, October 1996 (1996-10), pages 369-375, XP002235428 ISSN: 0167-7799 page 370, right-hand column, last paragraph - page 374, right-hand column, paragraph 1	1
A	ZAGURY D ET AL: "Toward a new generation of vaccines: The anti-cytokine therapeutic vaccines" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US, vol. 98, no. 14, 3 July 2001 (2001-07-03), pages 8024-8029, XP002186083 ISSN: 0027-8424 abstract page 8027, right-hand column, paragraph 3 - page 8028, right-hand column, last paragraph	1-14
A	US 6 093 405 A (ZAGURY DANIEL ET AL) 25 July 2000 (2000-07-25) abstract column 4, line 55 - column 5, line 8 column 8, lines 26-36 column 20, lines 38-62	1-14
E	WO 02/44197 A (FISH ELEANOR N) 6 June 2002 (2002-06-06) abstract page 3, lines 10-30 page 7, lines 7-19 page 11, lines 4-16	1-14

-/--

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/JP 01/120

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	<p>JOSEPHSON KRISTOPHER ET AL: "Noncompetitive antibody neutralization of IL-10 revealed by protein engineering and x-ray crystallography." STRUCTURE (CAMBRIDGE, MASS.: 2001) UNITED STATES JUL 2002, vol. 10, no. 7, July 2002 (2002-07), pages 981-987, XP002235429 ISSN: 0969-2126 the whole document -----</p>	1-14

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claims Nos.: **1-14**  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:  
  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

**See supplementary sheet**

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

**1-14 partially**

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.



## BOX I.2

## Claims No.: 1-14

The current claims 1-14 relate to a product defined in terms of a desirable characteristic or property, namely a peptide comprising 5 to 40 amino acids, derived from a cytokine and characterised in that at least one of these amino acids comprises at least one atom separated from an atom of the corresponding cytokine receptor by a distance of at least 5 angströms.

The claims cover all the peptides derived from a cytokine having this characteristic or property, yet the application provides support (PCT Article 6) and adequate disclosure (PCT Article 5) in the description for only a very limited number of such peptides. In the present case the claims lack the proper support and the application lacks the requisite disclosure to such an extent that it does not appear possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. Regardless of the above, the claims also lack clarity since they attempt to define the peptide in terms of the result which is to be achieved. Again, this lack of clarity is such that it is not possible to carry out a meaningful search covering the entire range of protection sought. The search was therefore directed to the parts of the claims whose subject matter appears to be clear, supported and adequately disclosed, namely the peptides prepared in examples 1-17 and those mentioned in the claims (SEQ ID No. 1-36).

The applicant is advised that claims or parts of claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established cannot normally be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). In its capacity as International Preliminary Examining Authority the EPO generally will not carry out a preliminary examination for subjects that have not been searched. This also applies to cases where the claims were amended after receipt of the international search report (PCT Article 19) or where the applicant submits new claims in the course of the procedure under PCT Chapter II. After entry into the regional phase before the EPO, however, an additional search can be carried out in the course of the examination (cf. EPO Guidelines, C-VI, 8.5) if the defects that led to the declaration under PCT Article 17(2) have been remedied.

## BOX II

The International Searching Authority has determined that this international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

## 1. Claims :1-14 (in part)

## Inventions 1-3

peptides derived from human interleukin 1-beta (hIL beta) and corresponding to SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 2 and SEQ ID No. 3, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

## 2. Claims :1-14 (in part)

## Invention 4

a peptide derived from human vascular endothelial growth factor (hVEGF) and corresponding to SEQ ID No. 4. Derivatives of this peptide and pharmaceutical compositions containing this peptide for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

## 3. Claims :1-14 (in part)

## Inventions 5-7

peptides derived from human tumour necrosis factor alpha (hTNFalpha) and corresponding to SEQ ID No. 5, SEQ ID No. 6 and SEQ ID No. 7, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

## 4. Claims :1-14 (in part)

## Inventions 8 and 9

peptides derived from human interferon gamma (hIFNgamma) and corresponding to SEQ ID No. 8 and SEQ ID No. 9, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

## 5. Claims :1-14 (in part)

## Invention 10

a peptide derived from human interleukin 10 (hIL10) and corresponding to SEQ ID No. 10. Derivatives of this peptide and pharmaceutical compositions containing this peptide for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

## 6. Claims :1-14 (in part)

## Inventions 11 and 12

peptides derived from human interleukin 4 (hIL4) and corresponding to SEQ ID No.11 and SEQ ID No. 12, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

## 7. Claims :1-14 (in part)

## Inventions 13 and 14

peptides derived from human interleukin 12, sub-unit p40 (hIL12p40) and corresponding to SEQ ID No. 13 and SEQ ID No. 14, respectively. Derivatives of these peptides and

pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

8. Claims :1-14 (in part)

Inventions 15-17

peptides derived from human interleukin 18 (hIL18) and corresponding to SEQ ID No. 15, SEQ. ID. No. 16 and SEQ ID No. 17, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

9. Claims :1-14 (in part)

Invention 18

a peptide derived from human interferon gamma inducible protein (hIP10) and corresponding to SEQ ID No. 18. Derivatives of this peptide and pharmaceutical compositions containing this peptide for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

10. Claims :1-14 (in part)

Inventions 19 and 20

peptides derived from human interleukin 5 (hIL5) and corresponding to SEQ ID No. 19 and SEQ ID No. 20, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

11. Claims :1-14 (in part)

Inventions 21 and 22

peptides derived from human transforming growth factor beta 2 (hTGFbeta2) and corresponding to SEQ ID No. 21 and SEQ ID No. 22, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

12. Claims :1-14 (in part)

Inventions 23 and 24

peptides derived from human interleukin 15 (hIL15) and corresponding to SEQ ID No. 23 and SEQ ID No. 24, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

13. Claims :1-14 (in part)

Inventions 25 and 26

peptides derived from human interleukin 6 (hIL6) and corresponding to SEQ ID No. 25 and SEQ ID No. 26, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

14. Claims :1-14 (in part)

Inventions 27 and 28

peptides derived from human macrophage inflammatory protein alpha (hMIPalpha) and corresponding to SEQ ID No. 27 and SEQ ID No. 28, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

15. Claims :1-14 (in part)

Inventions 29 and 30

peptides derived from human macrophage inflammatory protein beta (hMIPbeta) and corresponding to SEQ ID No. 29 and SEQ ID No. 30, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

16. Claims :1-14 (in part)

Inventions 31 and 32

peptides derived from human interleukin 13 (hIL13) and corresponding to SEQ ID No. 31 and SEQ ID No. 32, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

17. Claims :1-14 (in part)

Inventions 33 and 34

peptides derived from human regulated upon activation normal T-cells expressed (hRANTES) and corresponding to SEQ ID No. 33 and SEQ ID No. 34, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

18. Claims :1-14 (in part)

Inventions 35 and 36

peptides derived from human interferon alpha (hIFNalpha) and corresponding to SEQ ID No. 35 and SEQ ID No. 36, respectively. Derivatives of these peptides and pharmaceutical compositions containing these peptides for use as an immunogen in the treatment of autoimmune diseases.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/JP98/01120

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9851705	A	19-11-1998	IT MI971105 A1 AU 8016398 A WO 9851705 A1	12-11-1998 08-12-1998 19-11-1998
WO 9834631	A	13-08-1998	EP 1005354 A1 JP 2001511649 T US 6346602 B1 WO 9834631 A1	07-06-2000 14-08-2001 12-02-2002 13-08-1998
WO 9401457	A	20-01-1994	AU 4554493 A CA 2139571 A1 WO 9401457 A1 US 5684129 A	31-01-1994 20-01-1994 20-01-1994 04-11-1997
EP 0218531	A	15-04-1987	US 4772685 A EP 0218531 A2 JP 62096498 A US 4994553 A	20-09-1988 15-04-1987 02-05-1987 19-02-1991
WO 0047620	A	17-08-2000	WO 0047620 A1 AU 2648800 A CA 2362264 A1 EP 1161453 A1 JP 2002541061 T NZ 513507 A US 2003044975 A1 ZA 200106536 A	17-08-2000 29-08-2000 17-08-2000 12-12-2001 03-12-2002 29-08-2003 06-03-2003 08-08-2002
US 6093405	A	25-07-2000	FR 2677654 A1 AT 185149 T AU 2147992 A CA 2111580 A1 DE 69230068 D1 DE 69230068 T2 DK 591281 T3 EP 0591281 A1 ES 2136088 T3 WO 9222577 A1 GR 3032037 T3 US 6455045 B1	18-12-1992 15-10-1999 12-01-1993 23-12-1992 04-11-1999 09-03-2000 20-12-1999 13-04-1994 16-11-1999 23-12-1992 31-03-2000 24-09-2002
WO 0244197	A	06-06-2002	AU 2335002 A WO 0244197 A2	11-06-2002 06-06-2002

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 7 C07K14/52 A61K38/19 A61K39/00 A61P37/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

## B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C07K A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, MEDLINE, CHEM ABS Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	<p>FAIRBROTHER W J ET AL: "NOVEL PEPTIDES SELECTED TO BIND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR TARGET THE RECEPTOR-BINDING SITE" BIOCHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, PA, US, vol. 37, no. 51, 22 décembre 1998 (1998-12-22), pages 17754-17764, XP000876734 ISSN: 0006-2960 abrégé page 17754, colonne de droite, alinéa 3 page 17759, colonne de gauche, alinéa 2 - page 17760, colonne de gauche, alinéa 1; tableau 1</p> <p>----- -/--</p>	1

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

## \* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&amp;" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

28 octobre 2003

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

09. 01. 2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mateo Rosell, A.M.

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 98/51705 A (LUSSO PAOLO ;SAN RAFFAELE CENTRO FOND (IT)) 19 novembre 1998 (1998-11-19) abrégé page 4, ligne 5-29 page 5, ligne 7 - page 6, ligne 20 -----	1
X	WO 98/34631 A (UNIV JEFFERSON) 13 août 1998 (1998-08-13) abrégé page 3, ligne 1 - page 6, ligne 8; exemples 1,2 -----	1
X	WO 94/01457 A (FISH ELEANOR N) 20 janvier 1994 (1994-01-20) abrégé page 2; alinéa 3 - page 4, alinéa 1; figure 5; tableau 1 -----	1,11-14
X	EP 0 218 531 A (MERCK & CO INC) 15 avril 1987 (1987-04-15) page 2, colonnes 1-40 phrase 5; tableau I phrase 10; tableau II phrases 5-10; exemples 1-4; tableau III -----	1,3,4,7, 8,10,14
A	WO 00/47620 A (LOPEZ ANGEL FRANCISCO ;WOODCOCK JOANNA MAY (AU); ROSSJOHN JAMIE (A) 17 août 2000 (2000-08-17) abrégé page 2, ligne 25 - page 5, ligne 10 page 8, ligne 25 - page 21, ligne 2; exemples 1,2; tableaux 1,2 -----	1
A	BRAVO JERONIMO ET AL: "Receptor recognition by gp130 cytokines." EMBO (EUROPEAN MOLECULAR BIOLOGY ORGANIZATION) JOURNAL, vol. 19, no. 11, 1 juin 2000 (2000-06-01), pages 2399-2411, XP002235426 ISSN: 0261-4189 page 2403, colonne de droite, dernier alinéa - page 2406, colonne de droite, alinéa 1 page 2408, colonne de gauche, alinéa 2 - colonne de droite, dernier alinéa ----- -/--	1

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	CHA SUN-SHIN ET AL: "Crystal structure of TRAIL-DR5 complex identifies a critical role of the unique frame insertion in conferring recognition specificity." JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 275, no. 40, 6 octobre 2000 (2000-10-06), pages 31171-31177, XP002235427 ISSN: 0021-9258 page 31174, colonne de droite, alinéa 3 - colonne de gauche, alinéa 1; figure 4 -----	1
A	CHAIKEN I M ET AL: "Identifying structure-function relationships in four-helix bundle cytokines: towards de novo mimetics design." TRENDS IN BIOTECHNOLOGY. ENGLAND OCT 1996, vol. 14, no. 10, octobre 1996 (1996-10), pages 369-375, XP002235428 ISSN: 0167-7799 page 370, colonne de droite, dernier alinéa - page 374, colonne de droite, alinéa 1 -----	1
A	ZAGURY D ET AL: "Toward a new generation of vaccines: The anti-cytokine therapeutic vaccines" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US, vol. 98, no. 14, 3 juillet 2001 (2001-07-03), pages 8024-8029, XP002186083 ISSN: 0027-8424 abrégé page 8027, colonne de droite, alinéa 3 - page 8028, colonne de droite, dernier alinéa -----	1-14
A	US 6 093 405 A (ZAGURY DANIEL ET AL) 25 juillet 2000 (2000-07-25) abrégé colonne 4, ligne 55 - colonne 5, ligne 8 colonne 8, ligne 26-36 colonne 20, ligne 38-62 -----	1-14
E	WO 02/44197 A (FISH ELEANOR N) 6 juin 2002 (2002-06-06) abrégé page 3, ligne 10-30 page 7, ligne 7-19 page 11, ligne 4-16 ----- -/--	1-14



C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
T	<p>JOSEPHSON KRISTOPHER ET AL:  "Noncompetitive antibody neutralization of  IL-10 revealed by protein engineering and  x-ray crystallography."  STRUCTURE (CAMBRIDGE, MASS.: 2001) UNITED  STATES JUL 2002,  vol. 10, no. 7, juillet 2002 (2002-07),  pages 981-987, XP002235429  ISSN: 0969-2126  le document en entier  -----</p>	1-14

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°  
/FR 03/01120

## Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☒ Les revendications n<sup>os</sup> 1-14 se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:  
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Les revendications n<sup>os</sup> sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

## Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n<sup>os</sup>
4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n<sup>os</sup> 1-14 partiellement

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

-----

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 1-14

Les revendications 1-14 présentes ont trait à un produit défini en faisant référence à une caractéristique ou propriété souhaitable, à savoir: un peptide de taille comprise entre 5 et 40 acides aminés provenant d'une cytokine, caractérisé en ce que au moins un des ses acides aminés comporte au moins un de ses atomes espacé d'une distance d de moins de 5 angströms d'un atome du récepteur correspondant à la dite cytokine.

Les revendications couvrent tous les peptides provenant d'une cytokine présentant cette caractéristique ou propriété, alors que la demande ne fournit un fondement au sens de l'Article 6 PCT et un exposé au sens de l'Article 5 PCT que pour un nombre très limité de tels peptides. Dans le cas présent, les revendications manquent de fondement et la demande manque d'exposé à un point tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. Indépendamment des raisons évoquées ci-dessus, les revendications manquent aussi de clarté. En effet, on a cherché à définir le peptide au moyen du résultat à atteindre. Ce manque de clarté est, dans le cas présent, de nouveau tel qu'une recherche significative sur tout le spectre couvert par les revendications est impossible. En conséquence, la recherche n'a été effectuée que pour les parties des revendications dont l'objet apparaît être clair, fondé et suffisamment exposé, à savoir les peptides préparés dans les exemples 1-17 et ceux mentionnés dans les revendications (SEQ.ID.N.1-36).

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II. Si la demande devait être poursuivie dans la phase régionale devant l'OEB, il est rappelé au déposant qu'une recherche pourrait être effectuée durant la procédure d'examen devant l'OEB (voir Directive OEB C-VI, 8.5) à condition que les problèmes ayant conduit à la déclaration conformément à l'Article 17(2) PCT aient été résolus.

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 1-3

Peptides provenant du hIL beta (human interleukin 1-beta) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.1; SEQ.ID.N.2 et SEQ.ID.N.3, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

2. revendications: 1-14 partiellement

Invention 4

Un peptide provenant du hVEGF (human vascular endothelial growth factor) et qui correspond à la SEQ.ID.N.4. Des dérivés de tel peptide et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

3. revendications: 1-14 partiellement

Invention 5-7

Peptides provenant du hTNFalpha (human tumor necrosis factor alpha) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.5; SEQ.ID.N.6 et SEQ.ID.N.7, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

4. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 8 et 9

Peptides provenant du hIFNgamma (human interferon gamma) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.8 et SEQ.ID.N.9, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

5. revendications: 1-14 partiellement

Invention 10

Un peptide provenant du hIL10 (human interleukin 10) et qui correspond à la SEQ.ID.N.10. Des dérivés de tel peptide et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

6. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 11 et 12

Peptides provenant du hIL4 (human interleukin 4) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.11 et SEQ.ID.N.12, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

7. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 13 et 14

Un peptide provenant du hIL12p40 (human interleukin 12 sous unité p40) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.13 et SEQ.ID.N.14, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

8. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 15-17

Peptides provenant du hIL18 (human interleukin 18) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.15; SEQ.ID.N.16 et SEQ.ID.N.17, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

9. revendications: 1-14 partiellement

Invention 18

Un peptide provenant du hIP10 (human interferon gamma inducible protein) et qui correspond à la SEQ.ID.N.18. Des dérivés de tel peptide et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

10. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 19 et 20

Peptides provenant du hIL5 (human interleukin 5) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.19 et SEQ.ID.N.20, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

11. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 21 et 22

Peptides provenant du hTGFbeta2 (human transforming growth factor beta 2) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.21 et SEQ.ID.N.22, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

12. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 23 et 24

Peptides provenant du hIL15 (human interleukin 15) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.23 et SEQ.ID.N.24, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

13. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 25 et 26

Peptides provenant du hIL6 (human interleukin 6) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.25 et SEQ.ID.N.26, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

14. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 27 et 28

Peptides provenant du hMIPalpha (human macrophage inflammatory protein alpha) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.27 et SEQ.ID.N.28, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

15. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 29 et 30

Peptides provenant du hMIPbeta (human macrophage inflammatory protein beta) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.29 et SEQ.ID.N.30, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

16. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 31 et 32

Peptides provenant du hIL13 (human interleukin 13) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.31 et SEQ.ID.N.32, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

17. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 33 et 34

Peptides provenant du hRANTES (human regulated upon activation normal T-cells expressed) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.33 et SEQ.ID.N.34, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---

18. revendications: 1-14 partiellement

Inventions 35 et 36

Peptides provenant du hIFNalpha (human interferon alpha) et qui correspondent aux SEQ.ID.N.35 et SEQ.ID.N.36, respectivement. Des dérivés de tels peptides et des compositions pharmaceutiques comprenant ce peptide pour son utilisation comme immunogène pour le traitement des maladies auto-immunes.

---



Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9851705	A	19-11-1998	IT MI971105 A1 AU 8016398 A WO 9851705 A1	12-11-1998 08-12-1998 19-11-1998
WO 9834631	A	13-08-1998	EP 1005354 A1 JP 2001511649 T US 6346602 B1 WO 9834631 A1	07-06-2000 14-08-2001 12-02-2002 13-08-1998
WO 9401457	A	20-01-1994	AU 4554493 A CA 2139571 A1 WO 9401457 A1 US 5684129 A	31-01-1994 20-01-1994 20-01-1994 04-11-1997
EP 0218531	A	15-04-1987	US 4772685 A EP 0218531 A2 JP 62096498 A US 4994553 A	20-09-1988 15-04-1987 02-05-1987 19-02-1991
WO 0047620	A	17-08-2000	WO 0047620 A1 AU 2648800 A CA 2362264 A1 EP 1161453 A1 JP 2002541061 T NZ 513507 A US 2003044975 A1 ZA 200106536 A	17-08-2000 29-08-2000 17-08-2000 12-12-2001 03-12-2002 29-08-2003 06-03-2003 08-08-2002
US 6093405	A	25-07-2000	FR 2677654 A1 AT 185149 T AU 2147992 A CA 2111580 A1 DE 69230068 D1 DE 69230068 T2 DK 591281 T3 EP 0591281 A1 ES 2136088 T3 WO 9222577 A1 GR 3032037 T3 US 6455045 B1	18-12-1992 15-10-1999 12-01-1993 23-12-1992 04-11-1999 09-03-2000 20-12-1999 13-04-1994 16-11-1999 23-12-1992 31-03-2000 24-09-2002
WO 0244197	A	06-06-2002	AU 2335002 A WO 0244197 A2	11-06-2002 06-06-2002

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**